# (12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum Internationales Büro





## . 1881 | 1881 | 1881 | 1881 | 1881 | 1881 | 1882 | 1883 | 1884 | 1884 | 1884 | 1884 | 1884 | 1884 | 1884 | 188

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum 29. Januar 2004 (29.01.2004)

**PCT** 

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer WO 2004/010202 A1

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: G02B 27/12, 26/08, 21/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/006236

(22) Internationales Anmeldedatum:

13. Juni 2003 (13.06.2003)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

102 33 074.3 19. Juli 2

19. Juli 2002 (19.07.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): LEICA MICROSYSTEMS HEIDELBERG GMBH [DE/DE]; Am Friedensplatz 3, 68165 Mannheim (DE).

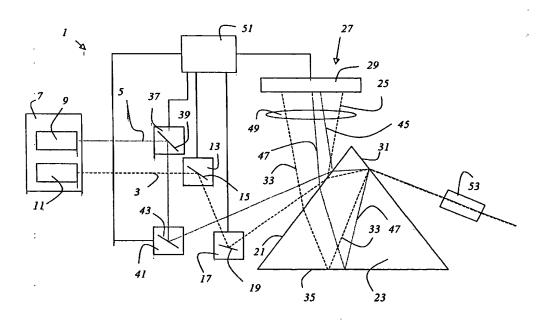
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ENGELHARDT, Johann [DE/DE]; Schiessauerweg 6, 76669 Bad Schönborn (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

#### Veröffentlicht:

mit internationalem Recherchenbericht

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

- (54) Title: OPTICAL DEVICE FOR THE COMBINATION OF LIGHT BEAMS
- (54) Bezeichnung: OPTISCHE VORRICHTUNG ZUM VEREINIGEN VON LICHTSTRAHLEN



(57) Abstract: An optical device for the combination of at least two light beams (3, 5), of various wavelengths is disclosed. The optical device is characterised in that the optical device has a first interface (21), which splits a reference beam (25), from each light beam (3, 5) and a second interface (31), which splits a further reference beam (33, 47) from each light beam and the reference beams and the further reference beams may be detected by at least one positional detector (27).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]





Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

### Optische Vorrichtung zum Vereinigen von Lichtstrahlen

Die Erfindung betrifft eine optische Vorrichtung zum Vereinigen von einem Lichtstrahl und zumindest einem weiteren Lichtstrahl.

In der Optik tritt häufig das Problem auf, Lichtstrahlen, insbesondere Lichtstrahlen unterschiedlicher Wellenlänge, kollinear zu vereinigen.

Beispielsweise in der Scanmikroskopie werden Proben oft mit mehreren Markern, beispielsweise mehreren unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen präpariert, um diese simultan mit einem Beleuchtungslichtstrahl, der Licht mehrerer Anregungswellenlängen beinhaltet, anzuregen. Zur Erzeugung des Beleuchtungslichtstrahles werden üblicherweise die Lichtstrahlen mehrerer Laser mit meist mehreren, hintereinander geschalteten, dichroitischen Strahlteilern vereinigt. Aus der Deutschen Offenlegungsschrift DE 198 29 953 A1 ist beispielsweise ein Scanmikroskop mit einem dichroitischen Strahlvereiniger für infrarotes und ultraviolettes Licht bekannt.

15 Aus der Deutschen Offenlegungsschrift DE 198 35 068 A1 ist ein Mikroskop, insbesondere Laser-Scanning-Mikroskop mit Beleuchtung über eine und/oder mehrere Wellenlängen bekannt, wobei eine Steuerung der Intensität mindestens einer Wellenlänge über mindestens einen im Beleuchtungsstrahlengang angeordneten drehbaren Interferenzfilter erfolgt, 20 wobei die mindestens eine Wellenlänge zumindest teilweise aus dem Beleuchtungsstrahlengang herausreflektiert wird und mehrere Filter für unterschiedliche Wellenlängen hintereinander im Beleuchtungsstrahlengang angeordnet sein können.

In der Scanmikroskopie werden die Lichtstrahlen einer Lichtquelle in das

10

PCT/EP2003/006236

Scanmikroskop eingekoppelt und auf den Strahlengang des Scanmikroskops justiert, und eine Probe mit dem Lichtstrahl beleuchtet, um das von der Probe emittierte Reflexions- oder Fluoreszenzlicht zu beobachten. Der Fokus eines Beleuchtungslichtstrahles wird mit Hilfe einer steuerbaren Strahlablenkeinrichtung, im Allgemeinen durch Verkippen zweier Spiegel, in einer Objektebene bewegt, wobei die Ablenkachsen meist senkrecht aufeinander stehen, so dass ein Spiegel in x-, der andere in y-Richtung ablenkt. Die Verkippung der Spiegel wird beispielsweise mit Hilfe von Galvanometer-Stellelementen bewerkstelligt. Die Leistung des vom Objekt kommenden Lichtes wird in Abhängigkeit von der Position des Abtaststrahles gemessen. Üblicherweise werden die Stellelemente mit Sensoren zur Ermittlung der aktuellen Spiegelstellung ausgerüstet.

Speziell in der konfokalen Scanmikroskopie wird ein Objekt mit dem Fokus eines Lichtstrahles in drei Dimensionen abgetastet.

Ein konfokales Rastermikroskop umfasst im Allgemeinen eine Lichtquelle, 15 eine Fokussieroptik, mit der das Licht der Quelle auf eine Lochblende - die Anregungsblende - fokussiert wird, einen Strahlteiler, Strahlablenkeinrichtung zur Strahlsteuerung, eine Mikroskopoptik, eine Detektionsblende und die Detektoren zum Nachweis des Detektions- bzw. Fluoreszenzlichtes. Das Beleuchtungslicht wird über einen Strahlteiler 20 eingekoppelt. Das vom Objekt kommende Fluoreszenz- oder Reflexionslicht gelangt über die Strahlablenkeinrichtung zurück zum Strahlteiler, passiert diesen, um anschließend auf die Detektionsblende fokussiert zu werden. hinter der sich die Detektoren befinden. Detektionslicht, das nicht direkt aus 25 der Fokusregion stammt, nimmt einen anderen Lichtweg und passiert die Detektionsblende nicht, so dass man eine Punktinformation erhält, die durch sequentielles Abtasten des Objekts zu einem dreidimensionalen Bild führt. Meist wird ein dreidimensionales Bild durch schichtweise Bilddatennahme erzielt, wobei die Bahn des Abtastlichtstrahles auf bzw. in dem Objekt 30 idealerweise einen Mäander beschreibt. (Abtasten einer Zeile in x-Richtung bei konstanter y-Position, anschließend x-Abtastung anhalten und per y-Verstellung auf die nächste abzutastende Zeile schwenken und dann, bei

10

15

20

25

30

konstanter y-Position, diese Zeile in negativer x-Richtung abtasten u.s.w.). Um eine schichtweise Bilddatennahme zu ermöglichen, wird der Probentisch oder das Objektiv nach dem Abtasten einer Schicht verschoben und so die nächste abzutastende Schicht in die Fokusebene des Objektivs gebracht.

Die Einkopplung der Lichtstrahlen zur Beleuchtung einer Probe in ein Mikroskop ist in Bezug auf die Justierung eine sehr kritische Stelle, insbesondere da die Lage und die Ausbreitungsrichtung meist mehrerer Lichtstrahlen unterschiedlicher Wellenlängen exakt dem Sollstrahlengang des Mikroskops folgen müssen. Die Justierung einer Direkteinkopplung ist einerseits schwierig und andererseits meist nicht sehr zuverlässig, da aufgrund relativ langer Lichtwege schon kleinste Schwankungen im Aufbau zu Störungen führen, die aufwendige Nachjustierungen erforderlich machen. Oft werden zum Transport der Lichtstrahlen von der Lichtquelle bzw. von den Lichtquellen zu dem Mikroskop Lichtleitfasern verwendet, um das Problem auf eine Justierung der Lichtleitfaserauskopplung zu reduzieren, die zwar auch aufwendig, jedoch aufgrund der kürzeren Lichtwege weniger empfindlich gegen Dejustierungen ist. Das Justierproblem wird hierdurch jedoch nicht gelöst, sondern allenfalls vermindert, wobei jedoch andere Schwierigkeiten, wie die Schwankung der Polarisationsrichtung der Lichtstrahlen entstehen.

Die bekannten Anordnungen zum Vereinigen von Lichtstrahlen unterschiedlicher Wellenlänge haben den Nachteil, dass sie in Bezug auf einen Wellenlängenwechsel unflexibel sind. Außerdem ist es nicht möglich zu ermitteln, ob die vereinigten Strahlen tatsächlich exakt kollinear verlaufen. Dies bleibt in der Regel aufwendigerweise dem Benutzer bzw. dem Servicetechniker überlassen. Verlaufen die zu einem Beleuchtungslichtstrahl vereinigten Lichtstrahlen nicht weitgehend kollinear, so kommt es in der Scanmikroskopie zu Abbildungsfehlern, insbesondere zu unschönen Artefakten und Helligkeitsschwankungen.

Es ist die Aufgabe der Erfindung, eine optische Vorrichtung zum Vereinigen von einem Lichtstrahl und zumindest einem weiteren Lichtstrahl vorzuschlagen, die flexibel insbesondere bei verschiedenen Wellenlängen

10

15

4

einsetzbar ist und die gleichzeitig eine effektive und wirksame Überwachung der Lichtstrahlvereinigung ermöglicht.

Die Aufgabe wird durch eine optische Vorrichtung gelöst, die dadurch gekennzeichnet ist, dass ein Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles von dem Lichtstrahl und eines weiteren ersten Referenzstrahles von dem weiteren Lichtstrahl, sowie ein weiteres Mittel zum Abspalten eines zweiten Referenzstrahles von dem Lichtstrahl und eines weiteren zweiten Referenzstrahles von dem weiteren Lichtstrahl vorgesehen ist, wobei die Referenzstrahlen von einem Positionsdetektor detektierbar sind, und wobei die Ausbreitungsrichtung und/oder die Lage des Lichtstrahles und/oder des weiteren Lichtstrahles in Abhängigkeit von den detektierten Positionen einstellbar ist.

Die Erfindung hat insbesondere in der Scanmikroskopie den Vorteil, dass eine einfache und zuverlässige Justierung der Lichtstrahlen einer Lichtquelle bzw. mehrerer Lichtquellen auf den Sollstrahlengang ermöglicht ist. Außerdem ist eine Möglichkeit zur wirksamen Überwachung der Justierung gegeben. Folglich ist in der Scanmikroskopie durch die Vermeidung von Dejustierungen eine besondere Stabilität der Bildqualität bei gleichzeitiger flexibler Einsetzbarkeit in Bezug auf die Beleuchtungslicht-Wellenlänge gegeben.

- In einer bevorzugten Ausgestaltung ist das Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles eine erste Grenzfläche und das weitere Mittel zum Abspalten des zweiten Referenzstrahles eine zweite Grenzfläche. In einer bevorzugten Ausgestaltung ist ein Prisma vorgesehen, wobei vorzugsweise zwei der Seitenflächen die erste und zweite Grenzfläche bilden.
- In einer anderen Variante ist ein akustooptisches Bauteil vorgesehen, das beispielsweise als ein akustooptischer Modulator (AOM), als ein akustooptischer abstimmbarer Filter (AOTF) oder als ein akustooptischer Deflektor (AOD) ausgeführt sein kann. Das akustooptische Bauteil, kann in einer bevorzugten Ausgestaltung die Vereinigung der Lichtstrahlen bewirken.

  In einer anderen Ausführung dient das akustooptische Bauteil zur spektralen Aufspaltung und ist beispielsweise einem Prisma mit einer ersten und einer

10

15

20

25

30

5

zweiten Grenzfläche vorgeordnet. Das akustooptische Bauteil kann auch dazu dienen die Lichtleistung der vereinigten Lichtstrahlen separat zu variieren und der jeweiligen Anwendung anzupassen.

In einer bevorzugten Ausgestaltung ist der Positionsdetektor für verschiedene detektierbare Positionen kalibriert. Jeder möglichen Strahllage vorzugsweise eine detektierbarer Satz von Positionen zugeordnet; auch zur Sollstrahllage gibt es einen korrespondierenden Satz von Sollpositionen. Die Ausbreitungsrichtung und/oder die Lage der zu justierenden Lichtstrahlen werden optimiert, bis die Sollpositionen detektiert werden. Weichen die detektierten Positionen, beispielsweise auf Grund einer äußeren Störung von den Sollpositionen ab, kann über eine Regelschleife eine Nachjustierung erfolgen, so dass die zu justierenden Lichtstrahlen aktiv auf dem Sollstrahlengang gehalten werden können. Vorzugsweise wird der erste Referenzstrahl und der zweite Referenzstrahl an verschiedenen Orten abgespalten.

In einer bevorzugten Ausgestaltung sind das Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles und das weitere Mittel zum Abspalten des zweiten Referenzstrahles Bestandteile eines einzigen optischen Bauteils, beispielsweise zwei Seitenflächen eines Prismas. Diese Ausgestaltung ist besonders stabil und resistent gegen Vibrationen und Erschütterungen. Die erfindungsgemäße Einrichtung bzw. Vorrichtung ist vorzugsweise in einer kompakten monolithischen Bauweise ausgeführt. Die Mittel zum Abspalten und der Positionsdetektor sind einander vorzugsweise raumfest zugeordnet ist, so dass, da nur eine Relativmessung ausgeführt werden muss, eine besondere Stabilität gegeben ist.

Die Ausbreitungsrichtung und/oder die Lage der Lichtstrahlen bzw. des Lichtstrahls sind in einer besonderen Ausgestaltung mit Stellelementen, die beispielsweise als kardanisch aufgehängte Kippspiegel ausgeführt sein können, veränderbar. In einer besonders bevorzugten Ausführungsvariante ist vorgesehen, dass die Einfallswinkel und/oder die Orte unter denen die Lichtstrahlen auf die erste Grenzfläche treffen, einstellbar sind. Hierzu sind ebenfalls Stellelemente vorgesehen. Als Stellelemente können alle

20

25

30

6

einstellbaren und vorzugsweise steuerbaren lichtstrahlablenkenden Elemente, wie beispielsweise auch akustooptische Deflektoren (AOD), verwendet werden. Die Stellelemente sind vorzugsweise dem Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles vorgeschaltet.

Eine Ausführungsform, in der die Stellelemente in Abhängigkeit von den mit dem Positionsdetektor(en) detektierten Positionen steuer- und/oder regelbar sind, ist besonders vorteilhaft. Mit einer solchen Ausgestaltung ist eine Steuerung bzw. Regelung realisierbar, die automatisch die Justierung des Lichtstrahles (der Lichtstrahlen) bzw. die Kollinearität der vereinigten Lichtstrahlen optimiert.

In einer bevorzugten Ausgestaltung ist der Positionsdetektor als CCD-Detektor ausgeführt. Er kann beispielsweise auch als Photodiodenzeile, als Photomultiplierarray ausgeführt sein oder auch mehrere Einzeldetektoren beinhalten. Vorzugsweise werden die Referenzstrahlen gemeinsam mit einem Positionsdetektor detektiert, so dass nur noch Relativmessungen innerhalb des Positionsdetektors nötig sind.

Vorzugsweise werden die Position des ersten Referenzstrahles und die Position des zweiten Referenzstrahles unabhängig voneinander detektiert und für Korrekturen der Strahlwinkel und -lagen nutzbar gemacht. In einer bevorzugten Ausgestaltung werden die Positionen der Referenzstrahlen gleichzeitig detektiert, was in Bezug auf äußere Störungen, wie Vibrationen und Erschütterungen, besonders vorteilhaft ist, weil keine Änderung der räumlichen Situation die Messung verfälscht.

In einer besonderen Ausführung sind die Lichtleistungen der Referenzstrahlen unabhängig voneinander ermittelbar und für Korrekturen der Lichtleistungen verwendbar, was insbesondere in der Scanmikroskopie von Wichtigkeit ist.

In einer bevorzugten Ausgestaltung der Einrichtung zum Justieren ist mindestens ein weiterer Lichtstrahl auf den Sollstrahlengang justierbar. Der Lichtstrahl und weitere Lichtstrahlen können verschiedene Wellenlängen aufweisen.

Vor dem Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles ist in einer

10

15

20

7

bevorzugten Ausgestaltung ein Bauteil zur spektralen Aufspaltung vorgesehen, das vorzugsweise zwischen den Stellelementen und dem Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles angeordnet ist. Das Bauteil zur spektralen Aufspaltung kann beispielsweise als planparallele Platte, als Prisma oder als Gitter ausgeführt sein.

In einer anderen Ausführung ist ein dispersives Element vorgesehen, das zwischen dem Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles und dem weiteren Mittel zum Abspalten des zweiten Referenzstrahles angeordnet ist.

In einer bevorzugten Ausgestaltung der Einrichtung zum Justieren spaltet das Mittel zum Abspalten von dem weiteren Lichtstrahl einen weiteren ersten Referenzstrahl ab und das weitere Mittel zum Abspalten von dem weiteren Lichtstrahl einen weiteren zweiten Referenzstrahl, wobei der weitere erste und der weitere zweite Referenzstrahl von dem Positionsdetektor detektierbar sind, und wobei die Ausbreitungsrichtung und/oder die Lage des zweiten Lichtstrahles in Abhängigkeit von den detektierten Positionen des weiteren ersten und des weiteren zweiten Referenzstrahls auf den Sollstrahlengang einstellbar ist. Vorzugsweise sind die Ausbreitungsrichtung und/oder die Lage des ersten und des weiteren Lichtstrahles unabhängig voneinander einstellbar. In einer Variante sind weitere Stellelemente zum Einstellen der Ausbreitungsrichtung und/oder der Lage des weiteren Lichtstrahles vorgesehen. Vorzugsweise sind die weiteren Stellelemente in Abhängigkeit von den detektierten Positionen des weiteren ersten und des weiteren zweiten Referenzstrahles steuerbar.

10

15

25

30

Die Einrichtung zum Justieren eignet sich besonders gut zur Einkopplung von Lichtstrahlen in ein Mikroskop, insbesondere ein Scanmikroskop, das als konfokales Scanmikroskop ausgeführt sein kann. Demgemäss kann der Sollstrahlengang der Strahlengang eines Mikroskops, eines Scanmikroskops oder ein konfokales Scanmikroskops sein. In einer anderen vorteilhaften Ausgestaltung dient die Einrichtung gleichzeitig zum Auskoppeln des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes.

In einer bevorzugten Ausgestaltung verlaufen die von der Lichtquelle emittierten Lichtstrahlen zunächst kollinear und werden vor der ersten Grenzfläche mit einem Bauteil zur spektralen Aufspaltung räumlich spektral getrennt. Diese Ausführung ist insbesondere dann interessant, wenn die Lichtquelle eine Lichtleitfaser umfasst, die alle primären Lichtstrahlen gemeinsam transportiert.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben, wobei gleich wirkende Bauteile mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigen:

- Fig. 1 eine optische Vorrichtung zum Vereinigen von zumindest zwei Lichtstrahlen,
- Fig. 2 eine Einrichtung zum Justieren,
- 20 Fig. 3 ein erfindungsgemäßes Scanmikroskop.
  - Fig. 4 eine weitere Einrichtung zum Justieren.

Fig. 1 zeigt schematisch eine optische Vorrichtung 1 zum Vereinigen von zumindest zwei Lichtstrahlen, nämlich einem ersten Lichtstrahl 3 und einem zweiten Lichtstrahl 5. Die Lichtstrahlen 3, 5 werden von einer Lichtquelle 7, die einen ersten Laser 9 und einen zweiten Laser 11 beinhaltet emittiert. Die Lichtstrahlen 3, 5 weisen unterschiedliche Wellenlängen auf. Der erste Lichtstrahl 3 trifft auf ein erstes Stellelement 13, das einen in zwei Achsen verkippbaren ersten Kippspiegel 15 beinhaltet. Anschließend trifft der erste Lichtstrahl 3 auf ein zweites Stellelement 17, das einen in zwei Achsen verkippbaren zweiten Kippspiegel 19 beinhaltet. Das zweite Stellelement 17

10

15

20

25

30

lenkt den ersten Lichtstrahl 3 auf ein Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles 25, das als erste Grenzfläche 21 eines Prismas 23 ausgeführt ist. An der ersten Grenzfläche 21 wird ein erster Referenzstrahl 25 durch Teilreflexion abgespalten und trifft auf den Positionsdetektor 27, der als CCD-Array 29 ausgeführt ist. Nach Passieren der ersten Grenzfläche 21 durchläuft der erste Lichtstrahl 3 das Prisma 23 und trifft auf ein weiteres Mittel zum Abspalten eines zweiten Referenzstrahles 33, das als zweite Grenzfläche 31 ausgeführt ist. An der zweiten Grenzfläche 31 wird ein zweiter Referenzstrahl 33 durch Teilreflexion abgespalten und trifft nach einer totalinternen Reflexion an einer dritten Grenzfläche 35 und nach Passieren der ersten Grenzfläche 21 auf den Positionsdetektor 27. Analog verläuft der zweite Lichtstrahl 5, von einem dritten Stellelement 37 mit einem dritten Kippspiegel 39 und einem vierten Stellelement 41 mit einem vierten Kippspiegel 43 geführt. Von dem zweiten Lichtstrahl 5 wird an der ersten Grenzfläche 21 ein weiterer erster Referenzstrahl 45 an der zweiten Grenzfläche 31 ein weiterer zweiter Referenzstrahl 47 abgespalten und zu dem Positionsdetektor 27 gelenkt. Vor dem Positionsdetektor ist eine Linse 49 angeordnet, die die Referenzstrahlen auf das CCD-Array 29 fokussiert. Es ist auch möglich, eine leichte Defokussierung vorzusehen, um durch Interpolation über mehrere Pixel eine bessere Auflösung zu erreichen. Aus den verschiedenen Auftrefforten der Referenzstrahlen auf dem CCD-Array 29 kann auf die Orte und auf die Winkel, unter denen die Lichtstrahlen 3, 5 auf die erste Grenzfläche 21 bzw. zweite Grenzfläche 31 treffen, geschlossen werden und somit auf die Lage und die Ausbreitungsrichtung der Lichtstrahlen 3, 5 nach dem Verlassen des Prismas 23. Der Positionsdetektor erzeugt Positionssignale, die er an eine Verarbeitungseinheit 51 weitergibt. Anhand der übergebenen Positionsdaten steuert die Verarbeitungseinheit 51 die Stellelemente 13, 17, 37, 41, bis die aus dem Prisma austretenden Lichtstrahlen 3, 5 hinreichend kollinear verlaufen. Der Wegunterschied zwischen dem ersten Referenzstrahl 25 und dem zweiten Referenzstrahl 33 bzw. zwischen dem weiteren ersten Referenzstrahl 45 und dem weiteren zweiten Referenzstrahl 47 beträgt vorzugsweise etwa 20 mm, was zu einer Abstandsänderung von ca. 20 µm auf dem Positionsdetektor pro mrad

20

25

30

Winkeldifferenz führt. 20 µm entspricht etwa dem Abstand zweier Pixel auf üblichen CCD Detektoren.

Im weiteren Strahlengang der vereinigten Lichtstrahlen 3, 5 ist ein akustooptisches Bauteil, das als AOTF 53 ausgeführt ist, vorgesehen, um die Lichtleistung der Lichtstrahlen 3, 5 separat einstellen zu können. Der erste Lichtstrahl 3 und die von ihm abgespaltenen Referenzstrahlen 25, 33 sind in der Zeichnung gestrichelt dargestellt. Der zweite Lichtstrahl 5 und die von ihm abgespaltenen Referenzstrahlen 45, 47 sind in der Zeichnung gepunktet dargestellt.

10 Fig. 2 zeigt eine erfindungsgemäße Vorrichtung, die insbesondere dazu geeignet ist, mehrere koaxial verlaufenden Lichtstrahlen 3, 5, unterschiedliche Wellenlängen aufweisen, beispielsweise nach Auskopplung Lichtleitfaser, aus einer auf einen gemeinsamen Sollstrahlengang zu justieren und dort durch eine geeignete Regelung zu 15 halten.

Die Lichtstrahlen 3, 5 treffen auf ein erstes Stellelement 13, das einen in zwei Achsen verkippbaren ersten Kippspiegel 15 beinhaltet und anschließend auf ein zweites Stellelement 17, das einen in zwei Achsen verkippbaren zweiten Kippspiegel 19 beinhaltet. Mit Hilfe der Stellelemente 13, 17 lässt sich die Lage und die Ausbreitungsrichtung der Lichtstrahlen 3, 5 einstellen. Nach Passieren der Stellelemente 13, 17 treffen die Lichtstrahlen 3, 5 auf eine erste planparallele Platte 55, die die Lichtstrahlen 3, 5 räumlich spektral trennt. Mit Hilfe einer zweiten planparallelen Platte 57 werden die Lichtstrahlen 3, 5 wieder vereinigt. Die zweite planparallele Platte 57 weist als Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles 25 und eines weiteren ersten Referenzstrahles 45 eine erste Grenzfläche 21 auf, die von dem ersten Lichtstrahl 3 einen ersten Referenzstrahl 25 und von dem zweiten Lichtstrahl 5 einen weiteren ersten Referenzstrahl 45 abspaltet. Nach Durchlaufen der zweiten planparallelen Platte 57 treffen die Lichtstrahlen 3, 5 auf ein Mittel zum Abspalten eines zweiten Referenzstrahles 33 und eines weiteren zweiten Referenzstrahles 47, nämlich eine zweite Grenzfläche 31, die von dem ersten Lichtstrahl 3 einen zweiten Referenzstrahl 33 und von dem zweiten Lichtstrahl

10

15

20

25

30

5 einen weiteren zweiten Referenzstrahl 47 abspaltet. Alle Referenzstrahlen werden zu einem Positionsdetektor 27 geführt, der als CCD-Array 29 ausgeführt ist.

Der Positionsdetektor 27 erzeugt Positionssignale, die er an eine Verarbeitungsarbeit 51 weitergibt. Anhand der übergebenen Positionsdaten steuert die Verarbeitungsarbeit 51 die Stellelemente 13, 17, bis die aus der zweiten planparallelen Platte austretenden Lichtstrahlen 3, 5 die gewünschte Lage haben und in die gewünschte Richtung verlaufen. Die aktuelle Lage und die aktuelle Ausbreitungsrichtung der Lichtstrahlen 3, 5 wird permanent oder regelmäßig gewünschten Lage und der gewünschten Ausbreitungsrichtung und ggf. verglichen automatisch von der Verarbeitungseinheit 51 über sie Stellelemente 13, 17 korrigiert.

Fig. 3 zeigt schematisch ein Scanmikroskop, das als konfokales Scanmikroskop ausgeführt ist. Die von einer Lichtquelle 7, die als Mehrlinienlaser ausgeführt ist, kommenden Lichtstrahlen 3, 5 werden mit der Optik 59 zum Transport in eine Lichtleitfaser 61 eingekoppelt. Die Auskopplung erfolgt mit einer weiteren Optik 63, die die Lichtstrahlen 3, 5 weitgehend kollimiert. Mit der folgenden Vorrichtung, deren Funktionsweise bereits in Bezug auf Fig. 2 beschrieben wurde, werden die Lichtstrahlen 3, 5 automatisch auf den Strahlengang des Scanmikroskops justiert.

Nach Passieren der Beleuchtungslochblende 65 werden die Lichtstrahlen 3, 5 von einen Strahlteiler 67 zu einem kardanisch aufgehängten Scanspiegel 69, der die Lichtstrahlen 3, 5 durch die Scanoptik 71, die Tubusoptik 73 und das Objektiv 75 hindurch über bzw. durch die Probe 77 führt. Die Probe 77 ist mit mehreren Fluoreszenzfarbstoffen markiert. Der von der Probe 77 ausgehende Detektionslichtstrahl 79 gelangt durch das Objektiv 75, die Tubusoptik 73 und die Scanoptik 71 hindurch und über den Scanspiegel 69 zum Strahlteiler 67, passiert diesen und trifft nach Passieren der Detektionsblende 81 auf einen Detektor 83, der als Multibanddetektor ausgeführt ist, und der elektrische, zur Leistung Detektionslichtstrahls des 79 proportionale elektrische Detektionssignale erzeugt. Diese werden an den PC 85 weitergeleitet. Die Detektionssignale werden im PC 85 aufbereitet und dem Benutzer auf einem

10

15

20

25

30

Monitor 87 in Form eines Abbildes der Probe 77 angezeigt. Das Scanmikroskop ist unempfindlich gegen Dejustierungen und erlaubt einen schnellen, unkomplizierten Wechsel der Lichtquelle bzw. der Lichtleitfaser.

Fig. 4 zeigt eine Einrichtung zum Justieren eines Lichtstrahles 3 auf einen Sollstrahlengang, der in der Zeichnung durch eine optische Sollachse 89 illustriert ist. Der Lichtstrahl 3 trifft auf ein erstes Stellelement 13, das einen in zwei Achsen verkippbaren ersten Kippspiegel 15 beinhaltet. Anschließend trifft der erste Lichtstrahl 3 auf ein zweites Stellelement 17, das einen in zwei Achsen verkippbaren zweiten Kippspiegel 19 beinhaltet. Das zweite Stellelement 17 lenkt den ersten Lichtstrahl 3 auf ein Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles 25, das als erste Grenzfläche 21 eines Prismas 23 ausgeführt ist. An der ersten Grenzfläche 21 wird ein erster Referenzstrahl 25 durch Teilreflexion abgespalten und trifft auf den Positionsdetektor 27, der als CCD-Array 29 ausgeführt ist. Nach Passieren der ersten Grenzfläche 21 durchläuft der erste Lichtstrahl 3 das Prisma 23 und trifft auf ein weiteres Mittel zum Abspalten eines zweiten Referenzstrahles 33, das als zweite Grenzfläche 31 ausgeführt ist. An der zweiten Grenzfläche 31 wird ein zweiter Referenzstrahl 33 durch Teilreflexion abgespalten und trifft nach einer totalinternen Reflexion an einer dritten Grenzfläche 35 und nach Passieren der ersten Grenzfläche 21 auf den Positionsdetektor 27. Vor dem Positionsdetektor ist eine Linse 49 angeordnet, die die Referenzstrahlen auf das CCD-Array 29 fokussiert. Es ist auch möglich, eine leichte Defokussierung vorzusehen, um durch Interpolation über mehrere Pixel eine bessere Auflösung zu erreichen. Aus den verschiedenen Auftrefforten der Referenzstrahlen auf dem CCD-Array 29 kann auf die Orte und auf die Winkel, unter denen der Lichtstrahl 3 auf die erste Grenzfläche 21 bzw. zweite Grenzfläche 31 treffen, geschlossen werden und somit auf die Lage und auf die Ausbreitungsrichtung des Lichtstrahls 3 nach dem Verlassen des Prismas 23. Der Positionsdetektor erzeugt Positionssignale, die er an eine Verarbeitungseinheit 51 weitergibt. Anhand der übergebenen Positionsdaten steuert die Verarbeitungseinheit 51 die Stellelemente 13, 17, bis der aus dem Prisma austretende Lichtstrahl 5 auf dem Sollstrahlengang bzw. der Sollachse

89 verläuft.

Mit derselben Einrichtung können weitere Lichtstrahlen gleichzeitig auf den Sollstrahlengang justiert werden. Hierfür sind vorzugsweise weitere Stellelemente vorgesehen.

Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

### Bezugszeichenliste:

	1	optische Vorrichtung
	3	erster Lichtstrahl
5	5	zweiter Lichtstrahl
	7	Lichtquelle
	9	erster Laser
	11	zweiter Laser
	13	erstes Stellelement
10	15	erster Kippspiegel
	17	zweiter Stellelement
	19	zweiter Kippspiegel
	21	erste Grenzfläche
	23	Prismas
15	25	erster Referenzstrahl
	27	Positionsdetektor
	29	CCD-Array
	31	zweite Grenzfläche
	33	zweiter Referenzstrahl
20	35	dritte Grenzfläche
	37	drittes Stellelement
	39	dritter Kippspiegel
	41	viertes Stellelement
	43	vierter Kippspiegel
25	45	weiterer erster Referenzstrahl

	47	weiterer zweiter Referenzstrahl
	49	Linse
	51	Verarbeitungsarbeit
	53	AOTF
5	55	erste planparallele Platte
	57	zweite planparallele Platte
	59	Optik
	61	Lichtleitfaser
	63	weitere Optik
10	65	Beleuchtungslochblende
	67	Strahlteiler
	69	Scanspiegel
	71	Scanoptik
	73	Tubusoptik
15	75	Objektiv
	77	Probe
	79	Detektionslichtstrahl
	81	Detektionsblende
	83	Detektor
20	85	PC
	87	Monitor
	89	Sollachse

10

### <u>Patentansprüche</u>

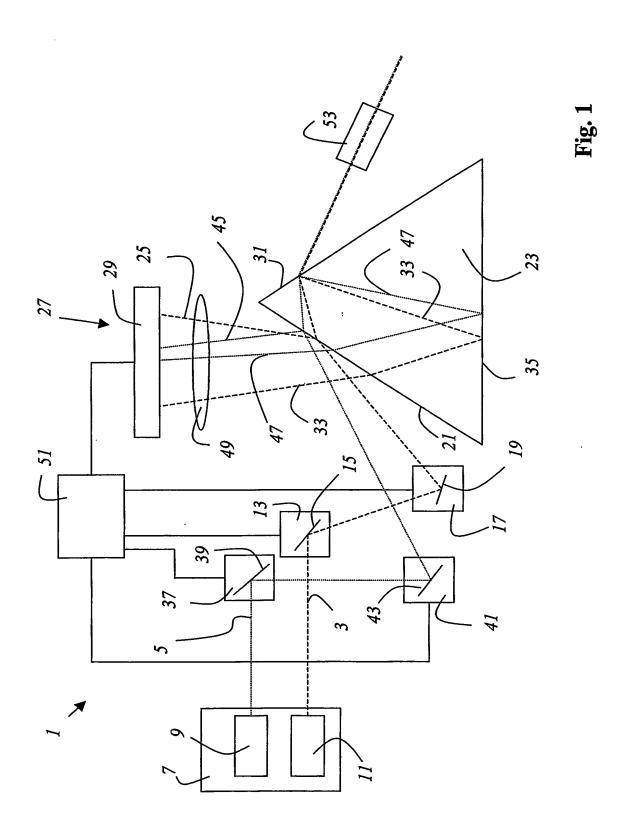
- 1. Optische Vorrichtung zum Vereinigen von einem Lichtstrahl und zumindest einem weiteren Lichtstrahl, dadurch gekennzeichnet, dass ein Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles von dem Lichtstrahl und eines weiteren ersten Referenzstrahles von dem weiteren Lichtstrahl, sowie ein weiteres Mittel zum Abspalten eines zweiten Referenzstrahles von dem Lichtstrahl und eines weiteren zweiten Referenzstrahles von dem weiteren Lichtstrahl vorgesehen ist, wobei die Referenzstrahlen von einem Positionsdetektor detektierbar sind und wobei die Ausbreitungsrichtung und/oder die Lage des Lichtstrahles und/oder des weiteren Lichtstrahles in Abhängigkeit von den detektierten Positionen einstellbar ist.
- 2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Lichtstrahl und der weitere Lichtstrahl unterschiedliche Wellenlängen aufweisen.
- 15 3. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles eine erste Grenzfläche und das weitere Mittel zum Abspalten des zweiten Referenzstrahles eine zweite Grenzfläche ist.
- Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch
   gekennzeichnet, dass die Einrichtung zumindest ein dispersives Element beinhaltet.
  - 5. Vorrichtung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das dispersive Element ein Prisma, ein Gitter oder ein akustooptisches Bauteil beinhaltet.
- 25 6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Mittel zum Abspalten und das weitere Mittel zum Abspalten Bestandteile desselben optischen Bauteils sind.
  - 7. Vorrichtung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass

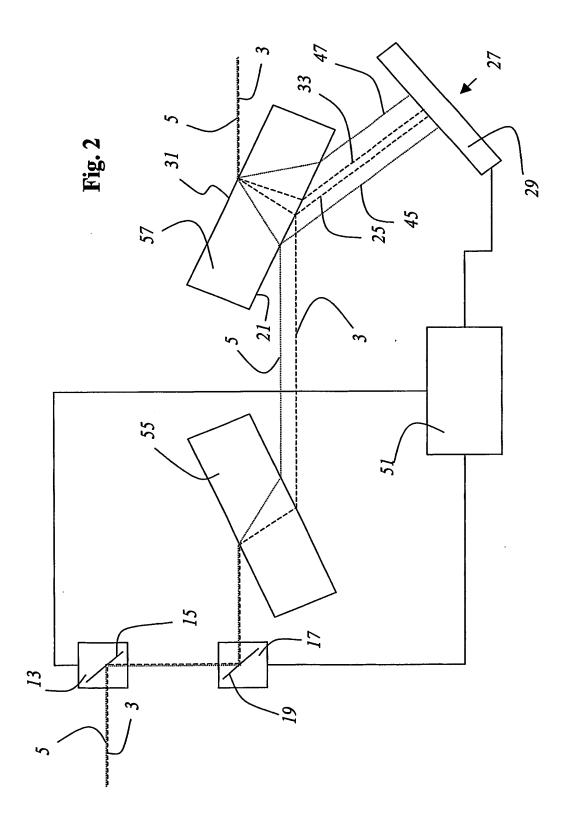
dasselbe optische Bauteil das dispersive Element beinhaltet.

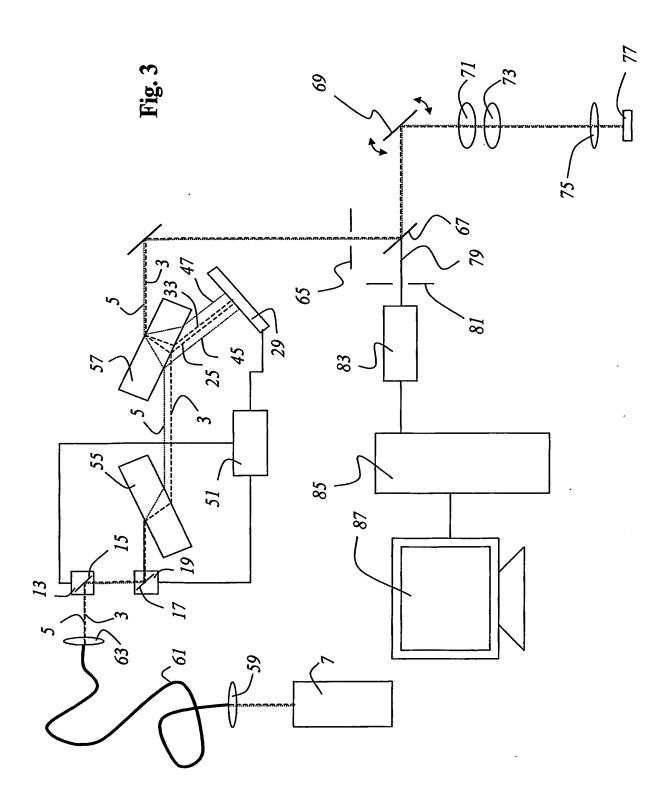
- 8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Ausbreitungsrichtung und/oder die Lage des ersten und des weiteren Lichtstrahles unabhängig voneinander einstellbar sind.
- 9. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass zum Einstellen der Ausbreitungsrichtung und/oder der Lage des Lichtstrahles und/oder des weiteren Lichtstrahls Stellelemente vorgesehen sind.
  - 10. Vorrichtung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Stellelemente Kippspiegel sind.
- 10 11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Stellelemente in Abhängigkeit von den detektierten Positionen steuerbar sind.
  - 12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Stellelemente dem Mittel zum Abspalten eines ersten Referenzstrahles vorgeschaltet sind.
  - 13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 3 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass der Einfallswinkel, unter dem der Lichtstrahl und/oder der weitere Lichtstrahl auf die erste Grenzfläche trifft, einstellbar ist.
- 14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 3 bis 13, dadurch
   20 gekennzeichnet, dass der Ort, an dem der Lichtstrahl und/oder der weitere
   Lichtstrahl auf die erste Grenzfläche trifft, einstellbar ist.
  - 15. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Positionsdetektor ein CCD-Detektor ist.
- 16. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Referenzstrahlen gemeinsam mit einem Positionsdetektor detektierbar sind.
  - 17. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Referenzstrahlen gleichzeitig detektierbar sind.
  - 18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Positionsdetektor für verschiedene detektierbare

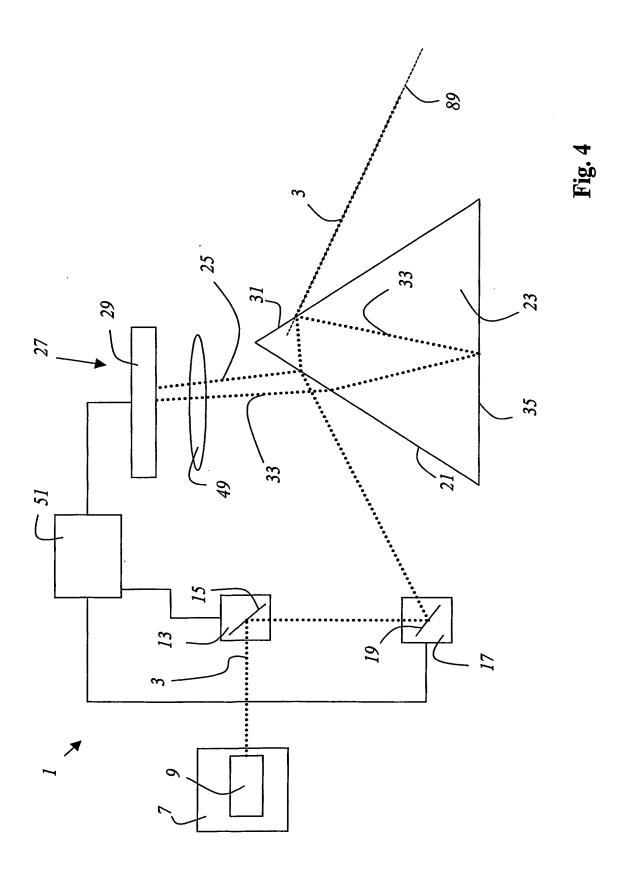
Positionen kalibrierbar ist.

- 19. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, gekennzeichnet durch die Verwendung zur Erzeugung eines Beleuchtungslichtstrahles für ein Scanmikroskop.
- 5 20. Scanmikroskop mit einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 19.











Internation Application No PCT/EP 03/06236

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G02B27/12 G02B G02B21/00 G02B26/08 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 GO2B Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Relevant to claim No. Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages 1-5, DE 198 16 302 C (ZEISS CARL JENA GMBH) Α 8-10,12, 25 November 1999 (1999-11-25) column 3, line 8 -column 4, line 15; figures 1.2 1,2,4,5, DE 198 29 953 A (ZEISS CARL JENA GMBH) A 19,20 5 January 2000 (2000-01-05) cited in the application the whole document; figures 1-4 1,2,4,5 US 3 743 383 A (GIALLORENZI T) Α 3 July 1973 (1973-07-03) column 1, line 56 -column 3, line 2; figure 1 Patent family members are listed in annex. Further documents are listed in the continuation of box C. Special categories of cited documents: \*T' later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance invention "E" earlier document but published on or after the international "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone filing date document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such docu-ments, such combination being obvious to a person skilled in the art. \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date daimed "&" document member of the same patent family Date of mailing of the international search report Date of the actual completion of the international search 24/10/2003 16 October 2003 Authorized officer Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016

Besser, V



Internation Application No PCT/EP 03/06236

		PC1/EP 03/06236		
C.(Continu	ation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category °	Citation of document, with Indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
A	EP 1 202 102 A (OLYMPUS OPTICAL CO) 2 May 2002 (2002-05-02) abstract column 3, paragraph 21 -column 5, paragraph 34; figure 1	1,2,4,5, 19,20		

Internation Application No PCT/EP 03/06236

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
DE 19816302	С	25-11-1999	DE	19816302	C1	25-11-1999
DE 19829953	Α	05-01-2000	DE US	19829953 6278555		05-01-2000 21-08-2001
US 3743383	Α	03-07-1973	CA	972194	A1	05-08-1975
EP 1202102	Α	02-05-2002	JP EP US	2002139675 1202102 2002085274	A1	17-05-2002 02-05-2002 04-07-2002

PCT/EP 03/06236

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 G02B27/12 G02B26/08 G02B21/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

#### B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchlerter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole )  $\ \ \, IPK \ \ \, 7 \qquad G02B$ 

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Recherchlerte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchlerten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

Kategorie®	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der im Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 198 16 302 C (ZEISS CARL JENA GMBH) 25. November 1999 (1999-11-25)	1-5, 8-10,12, 17
	Spalte 3, Zeile 8 -Spalte 4, Zeile 15; Abbildungen 1,2	
A	DE 198 29 953 A (ZEISS CARL JENA GMBH) 5. Januar 2000 (2000-01-05) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument; Abbildungen 1-4	1,2,4,5, 19,20
Α	US 3 743 383 A (GIALLORENZI T) 3. Juli 1973 (1973-07-03) Spalte 1, Zeile 56 -Spalte 3, Zeile 2; Abbildung 1	1,2,4,5

Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:  A Veröffentlichung, die den aligemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist  E ätteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeidedatum veröffentlicht worden ist  L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifeihaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)  O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht  P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeidedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	<ul> <li>*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kolldiert, sondem nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundellegenden Prinzips oder der ihr zugrundellegenden Theorie angegeben ist</li> <li>*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</li> <li>*Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahellegend ist</li> <li>*&amp;* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</li> </ul>
Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche	Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts
16. Oktober 2003	24/10/2003
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Besser, V

Siehe Anhang Patentfamilie



Internation as Aktenzeichen
PCT/EP 03/06236

<b>1</b>		03/06236				
(Fortsetz ategorie°	etzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN  e° Bezeichnung der Veröffentlichung, soweil erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Telle Betr. Anspruch Nr.					
negone	Bezeichnung der Vergitalitätnung, sowalt einorderlich unter Augabe der in betracht kommenden 1949					
	EP 1 202 102 A (OLYMPUS OPTICAL CO) 2. Mai 2002 (2002-05-02) Zusammenfassung Spalte 3, Absatz 21 -Spalte 5, Absatz 34; Abbildung 1	1,2,4,5, 19,20				

Internation Aktenzeichen
PCT/EP 03/06236

im Re angefühi	im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie			Datum der Veröffentlichung	
DE	19816302	С	25-11-1999	DE	19816302	C1	25-11-1999	
DE	19829953	Α	05-01-2000	DE US	19829953 6278555		05-01-2000 21-08-2001	
US	3743383	Α	03-07-1973	CA	972194	A1	05-08-1975	
EP	1202102	Α	02-05-2002	JP EP US	2002139675 1202102 2002085274	A1	17-05-2002 02-05-2002 04-07-2002	